

A capsaicin szenzoros neuronokra kifejtett specifikus hatásának felismerése alapvetően új utakat nyitott a fájdalomérzés élettani/patológiai folyamatainak kutatásában. Saját vizsgálatainkban morfológiailag identifikáltuk a capsaicin-szenzitív elsődleges érző neuron-rendszert és feltártuk strukturális, neurokémiai és funkcionális sajátosságait. Új kezelési technikák bevezetésével kimutattuk, hogy a capsaicin és rokon vegyületei jelentős antinociceptív hatással rendelkeznek és ezt döntően az érző neuronokra kifejtett neurotoxikus hatás révén fejtik ki.

A jelen pályázat keretében végzett kutatómunka elsősorban a capsaicin-szenzitív, tranziens receptor potenciál vanilloid 1-es típusú receptort (capsaicin receptor, TRPV1) expresszáló nociceptív primér szenzoros neuronoknak az érzőrendszert érintő patológiás folyamatok mechanizmusában betöltött szerepének további tisztázására irányultak. Emellett a capsaicin receptor expressziójának vizsgálatával kívántuk feltárni két potens vanilloid agonista, a capsaicin és a resiniferatoxin antinociceptív/antiinflammatorikus hatásának lehetséges mechanizmusait perineurális alkalmazást követően. Egyéb vizsgálatainkban különböző, az elsődleges nociceptív érző neuronokat károsító metabolikus változások (diabetes mellitus), valamint egyes (neuro-)toxikus farmakonok hatását is tanulmányoztuk az érző neuronok funkcionális, morfológiai és neurokémiai sajátosságaira. Morfológiai és elektrofiziológiai módszerekkel karakterizáltuk a neuronális TRPV1 expressziót alapvetően reguláló idegnövekedési faktorról, az NGF-el rokon inzulin receptort expresszáló TRPV1-immunreaktív primer szenzoros neuronokat.

I. A capsaicin-szenzitív primér szenzoros neuronok alapvető szerepének igazolása a perifériás idegek átmetszését követő spinalis neurolasztikus jelenségek kialakulásában.

Korábbi vizsgálatainkban kimutattuk, hogy a perifériás idegek sebészi, és a velőtlen C-rost afferenseket szelektíven károsító kémiai léziók jelentős deafferentációt idéznek elő az érintett ideg szomatotópiásan megfelelő projekciós területeiben a gerincvelő hátsó szarvának felületes rétegeiben. (Jancsó & Lawson 1990, Jancsó 1992). Feltételeztük, hogy a perifériás idegek sérülését követő kiterjedt deafferentáció a substantia gelatinosában kedvező feltételeket teremthet kompenzatorikus/regeneratív folyamatok kialakulásához. Woolf és munkatársai (1992) megfigyelték, hogy az *átmetszett* perifériás ideg proximális csomójába injiciált choleratoxin B alegység-tormaperoxidáz komplex (CTB-HRP) – amelyet a velősüvelű „A”-rostok szelektív markerének tekintettek, és ami *intakt* állatban retrográd axonális transzport révén csak a gerincvelő hátsó szarvának mélyebb rétegeibe transzportálódik – a C-rost afferensek projekciós területében, a substantia gelatinosában is megjelenik. A jelenséget a gerincvelő mélyebb rétegeiben végződő A β afferensek burjánzásával ("sprouting"), azaz a substantia gelatinosa-ba történő benövésével magyarázták. Az A β rostok ezen centrális reorganizációjának nagy jelentőséget tulajdonítottak az idegsérüléseket követő neuropáthiás fájdalom kialakulásában, hiszen a feltételezett új anatómiai helyzet lehetőséget teremthet a mechanoreceptor eredetű (nem nociceptív) idegi aktivitás áttérjedésére fájdalom-specifikus idegi struktúrákra. Ez az elképzelés a 90-es évekre általánosan elfogadott tankönyvi tétellé vált.

Újabb saját vizsgálataink, majd mások adatai is megkérdőjelezték ezt az általánosan elfogadott elképzelést és arra utaltak, hogy a jelenség nem a myelinhüvelyes afferensek burjánzása (sprouting) következtében alakul ki, hanem annak morfológiai szubsztátumát a sérült velőtlen C-afferensek képezik (Sántha és Jancsó, 2003, Todd és mtsai 2003, Bao és mtsai, 2002). A pályázat keretében végzett kísérletekben megvizsgáltuk az előzetes újszülött kori capsaicin-kezelésnek a felnőtt korban végzett perifériás ideg átmetszés spinalis primér afferens végződés megoszlására kifejtett hatását. Kontroll állatokban CTB-HRP

konjugátumnak az intakt oldali idegbe történő befecskendezését követően intenzív transzganglionáris jelölődést figyeltünk meg a gerincvelő hátsó szarvának mélyebb rétegeiben, míg a Rexed I-II-es laminák nem jelölődtek. A perifériás ideg átmetszését követően – a korábbi adatokkal egyezően – intenzív jelölődést lehetett kimutatni nemcsak a mélyebb rétegekben, hanem a felületes I-II-es laminákban is. Ezzel szemben újszülött korban capsaicinnel kezelt állatokban perifériás idegátmetszést követően a felületes I-II-es laminákban nem találtunk masszív CTB-HRP jelölődést. Tekintettel arra, hogy az újszülöttkori capsaicin kezelés a velőtlen, nociceptív C-afferens neuronok szelektív degenerációját hozza létre, eredményeink azt bizonyítják, hogy a jelenség kialakulásában a capsaicin-szenzitív primer afferens C-neuronok alapvető szerepet játszanak. Vizsgálataink alátámasztják korábbi elképzelésünket, miszerint az ún. sprouting jelenség kialakulása nem a myelinhüvelyes spinalis afferensek burjánzásának következménye. Arra következtettünk, hogy az axotomizált C-afferens neuronok képessé válnak a CTB-HRP felvételére és axonális transzportjára, azaz fenotípust váltanak (Jancsó és mtsai, 2004, 2006). Megfigyeltük azt is, hogy a capsaicinnel kezelt állatokban a hátsó kötegi magokban az átmetszést követően a kontrollhoz hasonlóan kimutatható a fokozott transzganglionáris jelölődés. Ezek az eredmények kétséget kizáróan bizonyítják, hogy a gerincvelő hátsó szarvának felületes lamináiban a perifériás idegek átmetszését követő robosztus morfológiai/hisztokémia változásokban a myelinhüvelyes afferensek nem játszanak lényeges szerepet, azok a velőtlen C-afferensek fenotípus-váltásának tulajdoníthatók. Ez a megfigyelésünk döntően hozzájárult a perifériás idegsérüléseket követő gerincvelői morfológiai változások természetének tisztázásához (ld. Ringkamp és mtsai, 2007).

Ezeknek a vizsgálatainknak egy másik érdekes aspektusa az, hogy bár az újszülöttkori capsaicin kezelés után a velőhüvelyes primer afferensek kiterjedt burjánzását (sprouting) mutattuk ki (Réthelyi, Salim és Jancsó, 1986), jelen kísérleteinkben az alkalmazott módszerrel hasonló jellegű „sarjadzást” nem figyeltünk meg. Ez felveti a jelenleg a gerincvelői „sprouting” jelenségek vizsgálatára általánosan alkalmazott, a CTB-HRP transzportján alapuló kísérleti módszerek alkalmasságának kérdését.

II. A perineurális capsaicin/resiniferatoxin kezelés hatása a CTB-HRP intraneurális transzportjára és TRPV1 expressziójára patkány szomatoszenzoros rendszerében

Korábban kimutattuk, hogy perineurális capsaicin kezeléssel szelektív és tartós regionális analgézia hozható létre, amely egyéb érzéskvalitásokat, motoros és vegetatív funkciókat nem érint (Jancsó 1980; Gamse és mtsai, 1982; Jancsó 1992). Az analgézias hatás mechanizmusa a kiterjedt vizsgálatok ellenére sem tisztázott. Kvantitatív hisztológiai és elektronmikroszkópos vizsgálatok feltárták, hogy hosszabb túlélési idő után a kezelés az érintett perifériás idegben futó velőtlen C-rostok mintegy 30%-ának elvesztésével jár (Jancsó és Lawson, 1990, Pini és mtsai 1990), ami egy dying back típusú neuropathias folyamat eredménye (Jancsó és Lawson 1990). Mindamellett továbbra is kérdéses, hogy miként alakul ki a gyakorlatilag teljes és irreverzibilis thermális és kemoanalgézia, hiszen az érintett ideg capsaicin-szenzitív idegrostjainak többsége túléli a kezelést. Ezért egyrészt immunhisztokémiai és in situ hibridizációs kísérleteket kezdtünk a TRPV1 receptor lokalizálására intakt és perineurálisan capsaicinnel kezelt állatok spinális ganglionjaiban. Másrészt, vizsgálatokat indítottunk annak felderítésére, hogy vajon valóban a myelines A β -rostok „burjánzása” (sprouting) lehet-e az oka annak, hogy perineurális capsaicin kezelés után a CTB-HRP fokozott intraneurális transzportját és a substantia gelatinosában történő megjelenését mutatták ki (Mannion és mtsai 1996). Utóbbi szerzők a jelenséget az A β -afferensekhez kötött neuroplasztikus jelenségnek tartották. Ezzel az általánosan elfogadott

nézettel szemben feltételeztük, hogy a jelenség kialakulásában a capsaicin-szenzitív primer afferens neuronok játszanak döntő szerepet.

II.1. A perineurális capsaicin/resiniferatoxin kezelés hatása a CTB-HRP intraneurális transzportjára patkány szomatoszenzoros rendszerében

A CTB-HRP transzganglionáris transzportján alapuló pályakövetési eljárás alkalmazásával kimutattuk, hogy az irodalmi adatokkal egyezően a perifériás ideg capsaicinnel történő kezelését követően két héttel jelentősen fokozódik a CTB-HRP transzganglionáris transzportja és a jelző-enzym megjelenik a substantia gelatinosában. Megállapítottuk azonban, hogy hasonló jelenség 8 héttel a perineurális capsaicin kezelés után nem figyelhető meg. A jelenség magyarázatát abban látjuk, hogy korábbi vizsgálataink szerint (ld. fent) hosszabb poszt-operatív túlélési idő után a capsaicin-szenzitív afferensek jelentős része eltűnik az érintett idegből. Kvantitatív morfometriai vizsgálataink is arra utaltak, hogy perineurális capsaicin kezelés után emelkedik a CTB-HRP-jelölt kis ganglionsejtek aránya, amit a késői túlélésű állatokban nem lehetett megfigyelni. Eredményeink alapján arra következtettünk, hogy perineurális capsaicin kezelést követően a substantia gelatinosa masszív CTB-HRP festődése nem magyarázható az A β afferenseknek a hátsó szarv felületes rétegeibe történő benövésével. Feltételeztük, hogy a CTB-HRP-t az intakt állatban ide (ti. a substantia gelatinosába) projiciáló C-rost afferensek transzportálják, amelyek a kezelés következtében fenotípus-váltást szenvednek és képessé válnak a CTB-HRP felvételére és axonális transzportjára. Feltevésünk bizonyítására elektronmikroszkópos hisztokémiai vizsgálatokat végeztünk, és kimutattuk, hogy míg az intakt/kontroll perifériás ideghez tartozó hátsó gyökerekben jelentős számú CTB-HRP-jelölt myelinhüvelyes idegrost mellett jelölt velőtlen rostok egyáltalán nem vagy legfeljebb csak elvétve találhatók, addig a capsaicinnel kezelt ideghez tartozó hátsó gyökerekben a myelinhüvelyes rostok mellett nagy számban láthatók jelölt velőtlen C-rostok. Ez a megfigyelés direkt bizonyítékot szolgáltat arra vonatkozóan, hogy – az általánosan elfogadott feltételezéssel szemben – perineurális capsaicin kezelést követően a substantia gelatinosa jelölődése a capsaicin-szenzitív primer afferensek által transzportált CTB-HRP-nek köszönhető. Resiniferatoxinnal végzett kísérleteinkben hasonló eredményekre jutottunk. Eredményeink teljesen új megvilágításba helyezték a „sprouting” jelenségről és annak jelentőségéről alkotott nézeteket, és az elmúlt időszakban átformálták a perifériás idegsérüléseket kísérő morfológiai változásokról alkotott elképzeléseket. (Meg kívánom jegyezni, hogy a „sprouting”-ra vonatkozó kísérletes eredményeket, amelyek a Nature-ben jelentek 1992-ben, munkacsoportunk cáfolta meg elsőnek és adta meg a jelenség ma is elfogadott magyarázatát. A későbbi folyóirat közlést (Sántha és Jancsó 2003) a kézirat elfogadása körüli – lényegében nem szakmai – bonyodalmak okozták. Nemzetközi szakmai kongresszuson azonban már 2000-ben bemutattuk eredményeinket és poszter-díjat nyertünk, Pain in Europe, Nizza, 2000).

II.2. A perineurális capsaicin kezelés hatása a TRPV1 expressziójára patkány szomatoszenzoros rendszerében.

Szenzoros ganglionsejtekben a TRPV1 expresszióját döntően a retrográd axonális transzport útján a perikaryont elérő trófikus faktorok, mindenek előtt az NGF regulálja (Winter 1988). Perifériás axotómiát követően a kialakuló NGF hiány miatt a ganglionsejtek TRPV1 expressziója gyorsan lecsökken, majd megszűnik (Michael és Priestley 1999). Ezért vizsgálatainkban összehasonlítóként tanulmányoztuk a TRPV1 expresszióját a perifériás ideg (n. ischiadicus) átmetszését követően is 3, 14 és 30 nappal. A n. ischiadicus perineurális kezelését követően 3, 14 és 30 nappal vizsgáltuk a TRPV1 expressziót a szegmentálisan

megfelelő L4 és L5 spinális ganglionokban. Kísérleteinket immunhisztokémiai vizsgálatokkal is kiegészítettük.

Az alkalikus foszfatázzal kombinált (kolor) *in situ* hibridizációs vizsgálatokat reprezentatív kriosztát sorozatmetszeteken végeztük. A TRPV1 génre specifikus ribopróba előállításához az agyszövetből izolált teljes RNS tartalmat reverz transzkriptázzal átírtuk. Az átírt cDNS-sel reverz transzkriptáz – PCR reakciót végeztünk a következő primer kombinációval: 5'-AACCATGGAACAACGGGCTAGC-3' (forward primer, a translációs start kodont kiemeltük); 5'-AACTCGAGTTAGAACAGACTGACA-3' (reverse primer). A 255 bp hosszú amplifikációs termék szekvenciáját direkt DNS szekvenálással és Northern blot analízissel ellenőriztük. A metszeteken az *in situ* hibridizációt 56°C-on, 20 óráig végeztük. A blokkolás után a hibridizációt alkalikus foszfatázzal konjugált anti-digoxigenin antitesttel detektáltuk. Az enzimreaktivitást NBT/BCIP kromogénnel vizualizáltuk.

A TRPV1 mRNS-t expresszió ill. a TRPV1-immunreaktivitás alapján a szenzoros ganglionokat három típusba soroltuk kvantitatív morfológiai (sejtméret és relatív optikai denzitás [ROD]) és matematikai/statisztikai módszerek segítségével. C típusú neuronok csoportjába soroltuk ROD alapján a legerősebb expressziót ill. immunreaktivitást mutató neuronokat. A B típusú neuronok közepes expressziót mutattak, míg az A típusú neuronokat TRPV1-negatívnak tekintettük. Immunhisztokémiai vizsgálataink szerint mind idegátmetszés, mind pedig perineurális capsaicin kezelés a TRPV1 immunreaktivitás gyors és tartós csökkenéséhez vezetett, amely a kísérlet egész időtartama alatt (30 nap) fennállt. A TRPV1 receptor mRNS expresszióját *in situ* hibridizációs módszerrel vizsgálva megállapítottuk, hogy az idegátmetszés a C típusú neuronokban az expresszió gyors és tartós csökkenését okozta. Ezzel szemben a perineurális capsaicin kezelés csak átmeneti csökkenést okozott a TRPV1-expressziót mutató sejtek arányában 3 nappal a kezelés után (kontroll: 19%; capsaicin 3 nap: 5%), amit a TRPV1-et expresszáló neuronok számának fokozatos emelkedése követett (14 nap: 9%; 30 nap: 13%). A B típusú neuronok TRPV1 expressziója perineurális capsaicin kezelés után 3 nappal enyhe, de nem szignifikáns csökkenést mutatott, majd visszatért a kiindulási szintre. Eredményeink szerint a TRPV1 mRNS expresszió perineurális capsaicin kezelést követő csökkenése jelentős restitúciót mutat. Ennek ellenére a funkcionális károsodások (hő- és kémiai fájdalomérzés markáns csökkenése, a neurogén gyulladás teljes gátlása) változatlanul fennállnak. Ezek a megfigyelések arra utalnak, hogy a perineurális capsaicin kezelés antinociceptív hatásában a TRPV1 receptor mRNS expresszió csökkenése mellett a receptor tartós (poszt-)transzlációs modifikálása is szerepet játszhat.

III. A capsaicin-szenzitív neuronok inzulin érzékenysége

Korábbi vizsgálatok igazolták, hogy patkány szenzoros ganglion neuronokban az inzulin receptor nagy mértékű ko-lokalizációt mutat a TRPV1 fehérjével (Sathaniathan 2003). A tirozin kináz receptorokon ható idegi növekedési faktorok, például az NGF, a TRPV1 ioncsatornát expresszáló primer nociceptív neuronok fenotípusának és aktivitásának fontos szabályozói, ezért feltételeztük, hogy az inzulin hasonló trofikus illetve szenzitizáló hatásokat fejthet ki ezekben a sejtekben. Korábbi kísérletek igazolták, hogy az inzulin előkezelés fokozta a capsaicinnal kiváltott kobalt felvételt szenzoros neuron kultúrákban, sőt nagy koncentrációban maga az inzulin is kiváltott kobalt akkumulációt (Sathaniathan 2003). Az inzulinnak és az inzulin szerű növekedési faktornak (IGF) a capsaicin szenzitív primer szenzoros neuronokra kifejtett aktiváló hatását elektrofiziológiai kísérletekkel is igazoltuk. Feltételeztük, hogy az inzulinnal kiváltott membrán áramok kialakulásában a TRPV1 csatorna aktivációja és/vagy szenzitizációja alapvető jelentőségű (Sántha, 2007a, 2007b). A TRPV1

knock out egereken végzett funkcionális vizsgálatok előtt igazolni kívántuk az inzulin receptor expresszióját egér hátsó gyöki ganglion sejtekben. A TRPV1 pozitív nociceptív szenzoros neuronok neurotrofin érzékenység, neurokémiai és funkcionális jellemzők alapján két nagy csoportra, az NGF érzékeny TrkA receptort és szenzoros neuropeptideket expresszáló ún. peptiderg neuronokra, illetve a GDNF érzékeny GFR α /Ret receptorokat és IB4 lektin kötőhelyeket expresszáló nem-peptiderg neuronokra oszthatók (Price 1985, Snider 1998). Vad típusú és TRPV1 $^{-/-}$ egerekben többes jelöléses immunhisztokémiai eljárással tanulmányoztuk az inzulin receptor ko-lokalizációját a CGRP illetve IB4 pozitív neuronokban. Eredményeink igazolták, hogy mindkét törzsben a primer szenzoros neuronok jelentős populációja (~ 35%) mutat inzulin receptor immunreaktivitást. A patkányhoz hasonlóan az inzulin receptor elsősorban a kis méretű, peripherin pozitív, feltételezhetően C típusú axonnal rendelkező neuronokban expresszálódik, de a velőhüvelyes, 200 KD neurofilamentet expresszáló közepes/nagy méretű neuronok kis populációja is rendelkezik inzulin receptorral. Vad típusú egérben az inzulin receptor-pozitív neuronok mintegy 70%-a volt TRPV1+, míg a TRPV1+ neuronok 65%-a mutatott inzulin receptor immunreaktivitást. Az inzulin receptor expresszió nem mutatott preferenciát a nociceptív neuronok egyik típusában sem; a CGRP és inzulin receptor pozitív és az IB4 és inzulin receptor pozitív immunreaktivitást mutató neuronok aránya hasonló volt. Megjegyzendő, hogy egérben, a korábban patkányban megfigyelttől eltérően magas, mintegy 30% volt az CGRP és IB4 kettősen jelölt neuronok aránya. A TRPV1 receptor delécioja nem okozott kimutatható változást sem az inzulin receptor ganglionáris expressziójában, sem a vizsgált sejtkategóriák (Peripherin/NF200; CGRP/IB4) közötti megoszlásában.

IV. A (GM1) gangliozidok lehetséges szerepe a nociceptorok capsaicin-érzékenységének regulációjában.

A perifériás idegek lézióit követő gerincvelői neuroplasztikus jelenségek tanulmányozása ill. a capsaicin-szenzitív primer érző ganglionsejtek fenotípus váltása révén „szerzett” új funkcionális sajátosságainak elemzése kapcsán került előtérbe azon elképzelésünk, miszerint a neuroplasztikus jelenségek vizualizálására alkalmazott choleratoxin B alegység nemcsak mint jelző/tracer molekulának lehet jelentősége ezen jelenségek tanulmányozásában. A CTB ugyanis rendkívül specifikusan kötődik biokémiai receptorához, a GM1 gangliozidhoz (Cuatrecasas 1973; Holmgren és mtsai 1973). A GM1 gangliozid számos fontos biokémiai folyamatban játszik szerepet, részben mint a biológiai membránok ún. lipid raft-jainak integráns alkotórésze. Ezeknek - egyebek mellett - fontos szerepet tulajdonítanak a neurotranszmitter-receptorok membrán-lokalizációjának regulációjában és egyes membrán-receptorok működésében (Hering és mtsai, 2003; Bruses és mtsai, 2001). Kimutatták, hogy a GM1 gangliozid fontos szerepet játszik az idegnövekedési faktor (NGF) biológiai hatásainak mechanizmusában is. A GM1 gangliozid neuronális sejtpusztulást csökkentő hatását részben NGF-szerű trofikus hatása révén fejté ki, másrészt pedig olyan celluláris mechanizmusok (pl. Trk receptorok) aktiválása révén, amelyek szerepet játszanak az NGF biológiai hatásainak közvetítésében (Panni és mtsai, 1998; Lucidi-Phillipi és mtsai, 1996; Mutoh és mtsai, 1998). A GM1 gangliozid endogén NGF-szintézist fokozó hatását is leírták (Duchemin és mtsai, 1997). Szövettenyészeteken végzett vizsgálatokban bizonyították, hogy PC12 sejtekben az NGF neurotrofikus hatását mediáló Trk, az NGF nagy affinitású receptorának aktiválását (foszforilációját) a GM1 gangliozid jelentősen fokozza. Megállapították, hogy a Trk normális működésében, s így az NGF hatás közvetítésében az endogén gangliozidok, elsősorban a GM1 gangliozid alapvető szerepet játszik (Mutoh és mtsai, 1998). Fenti megfontolásokból kiindulva előkísérleteket kezdtünk a gangliozid (GM1) szintézis farmakológiai befolyásolásának az érző ganglionsejtek capsaicin-érzékenységére kifejtett

hatásának tanulmányozására. Ehhez beállítottuk a primer érző neuronok tenyésztését felnőtt patkány spinális ganglionjaiból az irodalomban általánosan használt módszerek felhasználásával (ld. Winter és mtsai 1988). Előkísérleteinkben a glukozilceramid-szintáz gátlását követően vizsgáltuk a tenyésztett érző neuronok capsaicin érzékenységét kvantitatív kobalt-assay módszerrel (Wood és mtsai 1988). Eredményeink szerint a glukozilceramid-szintáz gátlása szignifikánsan csökkenti a neuronok capsaicin érzékenységét. Feltételezzük, hogy a gangliozid metabolizmus farmakológia manipulálása alkalmas eszköznek bizonyul a nociceptorok, különösen a TRPV1 receptor funkcionális sajátosságainak további megismerésében és a nociceptor funkció kísérletes/farmakológiai befolyásolásában.

Konklúzió: A lezárult OTKA támogatással végzett kutatási periódus főbb eredményeinek a következőket tartom: 1) Elsőként állapítottuk meg és további adatokat szolgáltatunk arra vonatkozóan, hogy a perifériás idegek sérülését követő un. gerincvelői sprouting jelenség morfológiai szubsztrátumát nem a vastag myelinhüvelyes spinális afferens rostok ill. azok burjánzása, hanem a velőtlen, nociceptív capsaicin-érzékeny C-típusú afferensek képezik. Ezzel jelentősen hozzájárultunk a szenzoros fiziológiában mintegy egy évtizedig uralkodó dogma megdöntéséhez; 2) In situ hibridizációs és immunhisztokémiai vizsgálatainkban kimutattuk, hogy a capsaicin receptor fehérje expressziójának tartós és a TRPV1 mRNS részleges és tranziens down-regulációja szerepet játszhat a capsaicin és más vanilloidok antinociceptív hatásában; 3) Elektrofiziológiai és immunhisztokémiai módszerekkel karakterizáltuk az inzulin receptor-pozitív ganglionsejtek új populációit; 4) Felismertük, hogy a glukozilceramide-szintáz gátlása jelentősen befolyásolja a nociceptív érző ganglionsejtek capsaicin-érzékenységét. Megfigyelésünk utat nyithat egy új kutatási területhez, a glykolipideknek fájdalomérzés modulációjában betöltött szerepének tanulmányozásához.

Baiou D, Santha P, Avelino A, Charrua A, Bacskai T, Matesz K, Cruz F, Nagy I. Neurochemical characterization of insulin receptor-expressing primary sensory neurons in wild-type and vanilloid type 1 transient receptor potential receptor knockout mice. *J Comp Neurol.* 2007; 503(2):334-47.

Bao L, Wang HF, Cai HJ, Tong YG, Jin SX, Lu YJ, Grant G, Hökfelt T, Zhang X. Peripheral axotomy induces only very limited sprouting of coarse myelinated afferents into inner lamina II of rat spinal cord. *Eur J Neurosci.* 2002; 16(2):175-85.

Brusés JL, Chauvet N, Rutishauser U. Membrane lipid rafts are necessary for the maintenance of the (alpha)7 nicotinic acetylcholine receptor in somatic spines of ciliary neurons. *J Neurosci.* 2001; 21(2):504-12.

Cuatrecasas P. Gangliosides and membrane receptors for cholera toxin. *Biochemistry.* 1973; 12(18):3558-66.

Duchemin AM, Neff NH, Hadjiconstantinou M. GM1 increases the content and mRNA of NGF in the brain of aged rats. *Neuroreport.* 1997; 8(17):3823-7.

Gamse R, Petsche U, Lembeck F, Jancsó G. Capsaicin applied to peripheral nerve inhibits axoplasmic transport of substance P and somatostatin. *Brain Res.* 1982; 239(2):447-62.

Gram DX, Ahrén B, Nagy I, Olsen UB, Brand CL, Sundler F, Tabanera R, Svendsen O, Carr RD, Santha P, Wierup N, Hansen AJ. Capsaicin-sensitive sensory fibers in the islets of Langerhans contribute to defective insulin secretion in Zucker diabetic rat, an animal model for some aspects of human type 2 diabetes. *Eur J Neurosci.* 2007; 25(1):213-23.

Hering H, Lin CC, Sheng M. Lipid rafts in the maintenance of synapses, dendritic spines, and surface AMPA receptor stability. *J Neurosci.* 2003; 23(8):3262-71.

Holmgren J, Lönnroth I, Svennerholm L. Tissue receptor for cholera exotoxin: postulated structure from studies with GM1 ganglioside and related glycolipids. *Infect Immun.* 1973; 8(2):208-14.

Hughes DI, Scott DT, Todd AJ, Riddell JS. Lack of evidence for sprouting of Abeta afferents into the superficial laminae of the spinal cord dorsal horn after nerve section. *J Neurosci.* 2003; 23(29):9491-9.

Jancsó G, Sántha P, Szigeti C, Dux M. Selective C-fiber deafferentation of the spinal dorsal horn prevents lesion-induced transganglionic transport of cholera toxin B subunit to the substantia gelatinosa in the rat. *Neurosci Lett.* 2004; 361(1-3):204-7.

Jancsó G. Pathobiological reactions of C-fibre primary sensory neurones to peripheral nerve injury. *Exp Physiol.* 1992; 77(3):405-31.

Jancsó G, Lawson SN. Transganglionic degeneration of capsaicin-sensitive C-fiber primary afferent terminals. *Neuroscience.* 1990; 39(2):501-11.

Jancsó G, Király E, Jancsó-Gábor A. Direct evidence for an axonal site of action of capsaicin. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol.* 1980; 313(1):91-4.

Lucidi-Phillipi CA, Clary DO, Reichardt LF, Gage FH. TrkA activation is sufficient to rescue axotomized cholinergic neurons. *Neuron.* 1996; 16(3):653-63.

Mannion RJ, Doubell TP, Coggeshall RE, Woolf CJ. Collateral sprouting of uninjured primary afferent A-fibers into the superficial dorsal horn of the adult rat spinal cord after topical capsaicin treatment to the sciatic nerve. *J Neurosci.* 1996; 16(16):5189-95.

Michael GJ, Priestley JV. Differential expression of the mRNA for the vanilloid receptor subtype 1 in cells of the adult rat dorsal root and nodose ganglia and its downregulation by axotomy. *J Neurosci.* 1999; 19(5):1844-54.

Mutoh T, Tokuda A, Inokuchi J, Kuriyama M. Glucosylceramide synthase inhibitor inhibits the action of nerve growth factor in PC12 cells. *J Biol Chem.* 1998; 273(40):26001-7.

Panni MK, Cooper JD, Sofroniew MV. Ganglioside GM1 potentiates NGF action on axotomized medial septal cholinergic neurons. *Brain Res.* 1998; 812(1-2):76-80.

Pini A, Baranowski R, Lynn B. Long-Term Reduction in the Number of C-Fibre Nociceptors Following Capsaicin Treatment of a Cutaneous Nerve in Adult Rats. *Eur J Neurosci.* 1990; 2(1):89-97.

Price J. An immunohistochemical and quantitative examination of dorsal root ganglion neuronal subpopulations. *J Neurosci.* 1985; 5(8):2051-9.

Réthelyi M, Salim MZ, Jancsó G. Altered distribution of dorsal root fibers in the rat following neonatal capsaicin treatment. *Neuroscience.* 1986; 18(3):749-61.

Fazen, LE; Ringkamp, M. The Pathophysiology of Neuropathic Pain: A Review of Current Research and Hypotheses. *Neurosurgery Quarterly.* 2007; 17(4):245-262.

Sathianathan V, Avelino A, Charrua A, Sántha P, Matesz K, Cruz F, Nagy I. Insulin induces cobalt uptake in a subpopulation of rat cultured primary sensory neurons. *Eur J Neurosci.* 2003; 18(9):2477-86.

Stucky CL, Lewin GR. Isolectin B(4)-positive and -negative nociceptors are functionally distinct. *J Neurosci.* 1999; 19(15):6497-505.

Sántha P, Jancsó G. Transganglionic transport of cholera toxin B subunit by capsaicin-sensitive C-fibre afferents to the substantia gelatinosa of the spinal dorsal horn after peripheral nerve section. *Neuroscience.* 2003; 116(3):621-7.

Sántha P., Jancsó G. and Nagy I., Insulin and Insulin-like Growth Factor induce thermo-sensitive ionic currents in capsaicin-sensitive primary sensory neurones. XIth Annual Meeting of the Hungarian Neuroscience Society, Szeged, Hungary, 24-27th January, 2007, P36

Sántha P., Jancsó G. and Nagy I., Insulin and Insulin-Like Growth Factor-I modulate the activity of capsaicin-sensitive primary sensory neurons. 2nd International Congress on Neuropathic Pain, Berlin, Germany, 7-10th June, 2007, P66

Winter J, Forbes CA, Sternberg J, Lindsay RM. Nerve growth factor (NGF) regulates adult rat cultured dorsal root ganglion neuron responses to the excitotoxin capsaicin. *Neuron.* 1988; 1(10):973-81.

Wood JN, Winter J, James IF, Rang HP, Yeats J, Bevan S. Capsaicin-induced ion fluxes in dorsal root ganglion cells in culture. *J Neurosci.* 1988; 8(9):3208-20.

Woolf CJ, Shortland P, Coggeshall RE. Peripheral nerve injury triggers central sprouting of myelinated afferents. *Nature.* 1992; 355(6355):75-8.